

PHARMAZEUTISCHE KOMBINATIONSPRÄPARATE ZUR KREBSTHERAPIE ENTHALTEND GLUTAMINASE
UND ANTINEOPLASTISCHE ANTHRACYCLINE ODER PLATINVERBINDUNGEN

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Kombinationspräparate, die das
abnormale Wachstum von Tumorzellen inhibieren. Diese
5 Kombinationspräparate umfassen als Wirkstoffe Verbindungen, die
Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit bestimmten
Antineoplastika. Insbesondere betrifft die Erfindung Kombinationspräparate
von Glutaminase-Aktivität aufweisenden Verbindungen mit cytostatisch
wirksamen Verbindungen.

10

Unter dem Oberbegriff Krebs ist eine Vielzahl verschiedener bösartiger
(maligner) Erkrankungen zusammengefasst, die sich dadurch auszeichnen,
dass Zellen unkontrolliert wachsen, eine Zelldifferenzierung fehlt und
benachbarte Gewebe durchdrungen sowie Metastasen gebildet werden.
15 Nahezu jedes Gewebe kann Ursprung für eine solche maligne Erkrankung
sein.

Heutige Standard-Krebstherapien mit antineoplastischen Wirkstoffen bergen
trotz der fortgeschrittenen Entwicklung erhebliche Nachteile und Risiken für
20 den Patienten. Aufgrund ihres unspezifischen antiproliferativen Effekts und
der hohen Dosierung werden durch diese Antineoplastika nicht nur
Tumorzellen, sondern auch gesunde, schnell wachsende Zellen geschädigt,
wie z.B. Schleimhäute, Zellen des blutbildenden Systems (Knochenmark)
und Haarfollikel. Die Behandlung mit Antineoplastika ist daher meist mit
25 starken Nebenwirkungen verbunden, die das allgemeine Wohlbefinden von
Patienten beeinträchtigen (akute Nebenwirkungen), zu irreversiblen
Schädigungen von gesundem Gewebe führen und das Risiko von
Zweitumoren erhöhen. Ferner können Tumore Resistenzen gegen
Wirkstoffe ausbilden, was bei MehrfachAnwendungen an einem Patienten
30 zum Wirkungsverlust führt.

Zur Erzielung besserer Wirksamkeiten und Verminderung der Resistenzbildung werden häufig mehrere Wirkstoffe kombiniert und gleichzeitig zur Therapie eingesetzt (Polychemotherapie). Trotz dieser Strategie sind die oben beschriebenen Probleme bisher nicht zufriedenstellend gelöst. Es ist aus wirtschaftlicher und medizinischer Sicht daher dringend erforderlich, neue und schonende Therapien für die Krebsbekämpfung zu finden.

Ein möglicher Ansatz zur Therapie solcher maligner Erkrankungen ist die Reduktion der Glutamin-Konzentration im Blutkreislauf. Glutamin ist die häufigste Aminosäure im Blutkreislauf und spielt als Stickstoff- und Energiequelle sowie als Basiskomponente für viele zelleigene Synthesen eine große Rolle. Insbesondere Tumorzellen sind aufgrund ihres starken Wachstums auf Glutamin aus dem Blutkreislauf angewiesen.

In den 1980er Jahren wurden zahlreiche Ansätze verfolgt, Glutamin spaltende Enzyme oder reaktive Glutaminanaloge zur Krebstherapie einzusetzen, die den Tumoren das benötigte Glutamin entziehen. Roberts et al. zeigten, dass *Pseudomonas* 7A Glutaminase-Asparaginase eine antineoplastische Aktivität gegen eine Vielzahl von Leukämie-Erkrankungen bei Nagern, gegen Ascites-Tumoren und bestimmte solide Tumore besitzt (DE 41 40 003 A1 und WO 94/13817 A1). Zusätzlich wurde in Tierexperimenten mit athymischen Mäusen ermittelt, dass die Kombination von Glutamin-Analoga (z.B. 6-diazo-5-oxo-L-Norleucin (DON)) und Glutaminase stark inhibierend auf menschliche Kolon-, Brust- und Lungenkarzinome wirkt (McGregor, W & Roberts, J (1989): Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 30, 578). Ferner wurde gezeigt, dass die Behandlung mit Glutaminase die Resistenzbildung gegen Methotrexat verzögert (Roberts, J., Schmid, F.A. & Rosenfeld, H.J. (1979): Cancer Treat. Rep. 63: 1045 - 1054).

Die anfänglich vielversprechenden Tierversuche führten jedoch noch nicht zu vermarktbareren Medikamenten, da alle Therapieansätze mit Glutaminase

oder Glutaminanaloga (z.B. DON, Acivicin) zunächst wegen zu starker toxischer Nebenwirkungen abgebrochen werden mussten (Medina MA (2001), Glutamin and cancer, The Journal of Nutrition, Vol 131 (9): 2539S - 42S). Trotz des idealen Wirkprinzips einer Glutamin-Depletion-Therapie hat
5 sich bisher keine Therapie auf der Basis von Proteinen mit Glutaminase-Aktivität durchsetzen können.

Da jedoch bis heute Krebserkrankungen nur unzureichend behandelt werden können, wäre es von größter medizinischer und wirtschaftlicher
10 Bedeutung, einen Weg zu finden, wie man den vielversprechenden Ansatz einer Glutamin-Depletion-Therapie in Zukunft nutzen kann.

Der vorliegenden Erfindung lag deshalb die Aufgabe zugrunde, die Wirkung von Antineoplastika zu steigern und Präparate bereitzustellen, die in
15 Konzentrationen eingesetzt werden können, die keine bzw. geringe Toxizitäten und Antikörperbildung hervorrufen.

Überraschend wurde gefunden, dass bestimmte an sich bekannte Antineoplastika in Kombination mit Verbindungen mit Glutaminase-Aktivität
20 geeignet sind, diese Aufgabe zu lösen. Die Kombinationen wirken synergistisch, direkt oder indirekt toxisch auf sich teilende Zellen und können somit zur antineoplastischen Therapie eingesetzt werden. Die Glutaminase-Aktivität aufweisende Komponente dient als Verstärker, der die erforderliche Dosis von Antineoplastika senkt und die Nebenwirkungen
25 sowie die Spätfolgen reduziert. Als Antineoplastika werden Platin-Komplexe, insbesondere cis-Platin, Oxaliplatin, Carboplatin oder Derivate davon oder Anthracycline, insbesondere Doxorubicin oder Daunomycin oder Derivate davon eingesetzt.

30 Insbesondere betrifft die Erfindung Kombinationspräparate von Verbindungen mit Glutaminase-Aktivität und cytostatisch wirksamen Verbindungen. Cytostatika sind in der antineoplastischen Therapie schon seit längerer Zeit ein anerkanntes und weit verbreitetes Behandlungsprinzip.

Sie werden eingesetzt, um maligne Zellen mit ungehemmtem Wachstumsverhalten zu zerstören. Normale und gesunde Zellen sollen möglichst wenig geschädigt werden.

5 Überraschenderweise wurde gefunden, dass Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit Antineoplastika eine synergistische Wirkung ausüben. So wurde im Falle der Anwendung der erfindungsgemäß eingesetzten Cytostatika festgestellt, dass eine Verstärkung des antiproliferativen oder antitumoralen Effekts auftritt.

10 Im Sinne der vorliegenden Erfindung werden unter Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, die Proteine bzw. Enzyme Glutaminase; Glutaminase-Asparaginase; Glutaminase-Analoga; Derivate und Modifizierungen verstanden, die entweder auf natürliche Weise vorkommen
15 oder synthetisch hergestellt werden und die die Glutaminproduktion hemmen. In einer Ausführungsvariante können die Verbindungen modifiziert oder mit Schutzsubstanzen versehen sein. Bevorzugt werden Polyethylenglykol modifizierte Verbindungen eingesetzt. Besonders bevorzugt wird gentechnisch hergestellte Glutaminase verwendet oder/und
20 Pseudomonas-Glutaminase. Erfindungsgemäß bevorzugt einsetzbare Glutaminasen sind in WO 94/13817 beschrieben.

Unter Antineoplastika werden Substanzen verstanden, die geeignet sind und dazu verwendet werden, um Mikroorganismen, Parasiten oder Tumorzellen
25 zu schädigen oder zu zerstören. Dabei sind insbesondere Cytostatika bzw. deren Derivate aus folgenden Gruppen zu nennen:

1. Alkylierende und quervernetzende Verbindungen: Sie schädigen DNA irreversibel; hierzu gehören Stickstofflost-Derivate wie
30 Cyclophosphamid, Ifosfamid, N-Nitroso-Verbindungen wie Carmustin, Ethylenimin (Aziridin)-Derivate wie Thiotepa, Methansulfonate wie Busulfan, Platin-Komplexe wie cis-Platin, Oxaliplatin oder Carboplatin, ferner Procarbazin, Melphalan u.a.

2. Antimetabolite: Sie verdrängen natürliche Stoffwechselbausteine; zum Beispiel Folsäure-Antagonisten wie Methotrexat, Nucleosid-Analoga wie Mercaptopurin, Fluoruracil u.a.
 3. Mitosehemmstoffe: Sie hemmen den Aufbau oder Abbau der Kernspindeln, bes. Vinca-Alkaloide (zum Beispiel Vincristin, Vinblastin) und Taxane (zum Beispiel Paclitaxel)
 4. Cytostatische Antibiotika: Anthracycline (z.B. Daunorubicin, Doxorubicin), Bleomycin und Mitomycine schädigen die Zelle u.a. durch Interkalation in DNA und Hemmung von Topoisomerasen (z.B. Etoposid) sowie Actinomycine, z.B. Actinomycin D und Mitoxantron
 5. Hormone und Hormon-Antagonisten: Sie werden bei Tumoren eingesetzt, deren Wachstum hormonabhängig ist; hierher gehören (Anti-) Estrogen (z.B. Tamoxifen) einschließlich Aromatase-Inhibitoren wie Formestan, Gestagene und Antiandrogene, wie z.B. Flutamid.
- Grundsätzlich können alle diese genannten Verbindungen zusammen mit einer Verbindung mit Glutaminase-Aktivität zur Herstellung von Kombinationspräparaten eingesetzt werden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist neben den Kombinationspräparaten die Verwendung von Antineoplastika mit Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, zur Behandlung von Krebs und anderen Krankheiten, die im Zusammenhang mit abnormaler Zellproliferation stehen.

Insbesondere bestehen solche Wirkstoffkombinationen aus einer Glutaminase/Asparaginase, vorzugsweise Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase, und einem oder mehreren Antineoplastika aus den o.g. Gruppen.

Kombinationen dieser Erfindung zeichnen sich dadurch aus, dass die antitumorale Wirkung von herkömmlichen Antineoplastika durch Kombination mit einer Glutaminase-Aktivität aufweisenden Verbindung
5 signifikant verstärkt wird und der Proteinwirkstoff selber in Konzentrationen eingesetzt werden kann, die keine toxischen Wirkungen hervorrufen.

Erfindungsgemäß können die Kombinationspräparate für die Krebstherapie eingesetzt werden. Es können insbesondere subtherapeutische Dosen einer
10 Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und Antineoplastika verwendet werden, die synergistisch das Tumorzellwachstum inhibieren. Das bedeutet, dass die Kombination der Wirkstoffe eine wesentlich größere antineoplastische Aktivität aufweist als jeweils ein Wirkstoff dieser
Wirkstoffklasse alleine.

15 Zu den antineoplastischen Wirkstoffen, die sich für eine Kombination eignen, gehören erfindungsgemäß Platin-Komplexe, insbesondere cis-Platin Oxaliplatin, Carboplatin oder Derivate davon, sowie Anthracycline, z.B. Actinomycin D, Mitoxantron, und insbesondere die DNS-Interkalatoren
20 Doxorubicin und Daunomycin (Daunorubicin). Weitere antineoplastische Wirkstoffe, welche für eine Kombination herangezogen werden können, umfassen die DNS-alkylierenden Wirkstoffe Cyclophosphamid, Ifosfamid, Melphalan; die Antimetaboliten Methotrexat, 5-Fluoruracil; die Spindel- oder Mikrotubuligifte Vincristin, Vinblastin, Paclitaxel; den
25 Topoisomerasehemmstoff Etoposid; die Antibiotika Actinomycin D, Mitomycin, Mitoxantron; die Hormone Tamoxifen und Flutamid.

Die Anwendung einer Kombinationstherapie mithilfe der pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung bietet den Vorteil der synergistischen
30 Verstärkung der antitumoralen Wirksamkeit der Einzelsubstanzen. Dadurch ergibt sich ferner die Möglichkeit der Reduktion der Dosen und damit der Toxizitäten der Einzelsubstanzen bei gleichzeitiger Erhaltung der antitumoralen Wirksamkeit bei Kombination der Einzelsubstanzen. Eine

Kombinationstherapie der o.g. Einzeltherapieprinzipien bietet ferner die Möglichkeit der Überwindung von Cytostatika-Resistenzen, wobei sowohl Substanzgruppenresistenzen als auch Mehrfachresistenzen (pleiotrope Cytostatikaresistenz) in Frage kommen.

5

Ohne an eine Theorie gebunden sein zu wollen, wird vermutet, dass der erfindungsgemäß beobachtete synergistische Effekt auf folgendem Wirkmechanismus beruht. Alkylierende Cytostatika, wie z.B. Platinpräparate, üben eine Wirkung auf Krebszellen insbesondere während der Zellteilung aus. Über die Energieverarmung durch Glutaminentzug mittels Glutaminase sowie durch das Fehlen von Glutamin bei der DNS-Synthese durch die Glutaminase, kommt es zu einer Verlängerung der Zellteilungszeit und somit zu einer Verlängerung der vulnerablen Phase der Krebszellen für alkylierende Substanzen. Wie bekannt ist (beispielsweise aus Gewebekulturuntersuchungen), wachsen die Krebszellen im Medium erst ab einer gewissen Konzentration von Glutamin an. Weiterhin wurde mittels Durchflusscytometrie festgestellt, dass die akute myeloische Leukämie besonders in den frühen Morgenstunden auf cytostatische Therapien anspricht. Zusätzlich fehlt der Krebszelle durch den Glutaminentzug in der Zelle wie auch außerhalb ein wichtiges Antioxidans, was weiter zur Vulnerabilität durch Cytostatika beiträgt.

10

15

20

25

30

Bei der Anwendung der Kombinationstherapie ist es möglich, die Wirkstoffe in einer sogenannten fixen Kombination, d.h. in einer einzigen pharmazeutischen Formulierung zu verabreichen, in der beide Wirkstoffe enthalten sind, oder eine sogenannte freie Kombination zu wählen, bei der die Wirkstoffe in Form von getrennten pharmazeutischen Formulierungen gleichzeitig oder aber auch nacheinander appliziert werden können.

Sind die Wirkstoffe Feststoffe, so können die Wirkstoffe nach üblichen Verfahren zu festen Arzneimittelpräparaten verarbeitet werden, indem man z.B. beide Wirkstoffe miteinander vermischt und mit üblichen Träger- oder Hilfsstoffen zusammen beispielsweise zu Tabletten verpresst. Es ist aber

auch möglich, die Wirkstoffe getrennt voneinander in einer verkaufsfertigen Verpackungseinheit zur Verfügung zu stellen, wobei die Verpackungseinheit die beiden Wirkstoffe in getrennten pharmazeutischen Formulierungen enthält.

5

Werden die Wirkstoffe in Form von Injektionslösungen zur Verfügung gestellt, so können diese die in Frage kommenden Wirkstoffkombinationen bereits in fertig injizierbarer gelöster Form enthalten. Prinzipiell ist es aber auch möglich, je eine parenterale Formulierung für jeden in Frage
10 kommenden Wirkstoff in einer Verpackungseinheit zur Verfügung zu stellen, sodass die Injektionslösungen gegebenenfalls getrennt voneinander appliziert werden können. Bei Unverträglichkeiten der Wirkstoffe miteinander ist diese Form der Anwendung die bevorzugte Methode.

15

Im Falle der parenteralen Darreichungsform können die Wirkstoffe auch in Substanz, gegebenenfalls zusammen mit üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen, beispielsweise in lyophilisierter Form vorliegen und durch Zugabe von pharmazeutisch üblichen Injektionsmedien rekonstituiert oder solubilisiert werden.

20

Die pharmazeutischen Präparate kommen in flüssiger oder fester Form zur enteralen oder parenteralen Applikation. Hierbei kommen alle üblichen Applikationsformen in Frage, beispielsweise Tabletten, Kapseln, Dragees, Sirupe, Lösungen, Suspensionen. Als Injektionsmedium kommt
25 vorzugsweise Wasser zur Anwendung, welches die bei Injektionslösungen üblichen Zusätze wie Stabilisierungsmittel, Lösungsvermittler und Puffer enthält. Derartige Zusätze sind z.B. Tartrat- und Citratpuffer, Ethanol, Komplexbildner wie z.B. Ethylendiamintetraessigsäure und deren nichttoxischen Salze, sowie hochmolekulare Polymere wie flüssiges
30 Polyethylenoxid zur Viskositätsregelung. Flüssige Trägerstoffe für Injektionslösungen müssen steril sein und werden vorzugsweise in Ampullen abgefüllt. Feste Trägerstoffe sind z.B. Stärke, Lactose, Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren wie Stearinsäure, Gelatine, Agar-Agar,

Calciumphosphat, Magnesiumstereat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere wie Polyethylenglykole; für orale Applikation geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls Geschmacks- und Süßstoffe enthalten.

5

Die Dosierung kann von verschiedenen Faktoren wie Applikationsweise, Spezies, Alter und individuellen Zustand abhängen. Die täglich zu verabreichenden Dosen liegen bei 0,005 - 100 mg/kg Körpergewicht pro Einzelkomponente.

10

Bei den Kombinationspräparaten kann sich das Verhältnis zwischen den Wirkstoffen in einem sehr weiten Bereich bewegen. So sind beispielsweise molare Verhältnisse zwischen 1 : 10 bis 1 : 1000 und 10 : 1 bis 1000 : 1 möglich, je nach Wirksamkeit der in Frage kommenden Wirkstoffe. Im Falle der Kombination mit Cytostatika ist ein Verhältnis zwischen 1 : 100 und 100 : 1 bevorzugt.

15

In einer besonder bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung ein pharmazeutisches Kombinationspräparat bestehend aus mindestens einer Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und mindestens einem Platin-Komplex, insbesondere cis-Platin. Es wurde festgestellt, dass Platin-Komplexe in der Kombination mit Glutaminase, insbesondere Pseudomonas-Glutaminase, in Gewebekulturen synergistische Effekte an unterschiedlichen Tu-Zelllinien bis zu einem Faktor 120 zeigen. Die Dosis von cis-Platin und Glutaminase kann dadurch jeweils deutlich gegenüber den bei Einzeltherapien benötigten Dosismengen verringert werden. So beträgt die therapeutische Dosis für Glutaminase in den erfindungsgemäßen Kombinationspräparaten vorzugsweise 50 – 150 I.U./m², insbesondere 100 – 130 I.U./m². Die Dosis an Platin-Komplex, insbesondere cis-Platin, beträgt bei den erfindungsgemäßen Kombinationspräparaten vorzugsweise 1 – 20 mg/m², insbesondere 2 – 15 mg/m² und noch mehr bevorzugt 5 – 10 mg/m² Körperoberfläche. Bei solchen Dosierungen wird bereits ein Ansprechen von soliden Tumoren bei fünftägiger Gabe beobachtet. Bei dreiwöchiger Gabe

20

25

30

beträgt die Dosis vorzugsweise 10 – 100 mg/m², insbesondere 20 – 50 mg/m².

Bei Kombinationspräparaten umfassend eine Glutaminase und ein Anthracyclin, insbesondere Doxorubicin, beträgt die Dosis für Glutaminase wiederum bevorzugt 50 – 150 I.U./m², insbesondere 100 – 130 I.U./m² Körperoberfläche. Die Menge an Doxorubicin beträgt vorteilhafterweise 1 – 20 mg/m², insbesondere 2 – 15 mg/m² und noch mehr bevorzugt 5 – 10 mg/m² Körperoberfläche bei ein Mal wöchentlicher Applikation. Bei dreiwöchiger Verabreichung beträgt die bevorzugte Dosis 5 – 60 mg/m², insbesondere 10 – 50 mg/m² und noch mehr bevorzugt 15 – 30 mg/m² Körpergewicht.

Die folgenden Beispiele belegen die synergistische Wirkung einiger repräsentativer Kombinationspräparate.

Beispiel 1

In-vitro Tests zur Untersuchung der anti-tumoralen Wirkung von Wirkstoffen

Die anti-tumorale Wirkung von Substanzen wurde in einem in-vitro ZellkulturTest mittels Sulforhodamin-Methode untersucht (Boyd MR, The NCI In Vitro Anticancer Drug Discovery Screen. In: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials and Approval (Eds. Teicher B. and Totowa N), 1985-1995; Skehan P et al. (1990), "New Clorimetric Assay for Anticancer Drug Screening", J Natl. Can. Instit. 82: 1107-1112). Für den Test wurden Zelllinien aus Tumoren der Brust (MCF7), Lunge (NCI-H460, A549), Colon (SW-60, HT29) und CNS (SF-539) verwendet. Die Kultivierung der Tumorzellen erfolgte im RPMI 1640 Medium mit 7,5 % fötalem Kälberserum bei 37 °C und 5 % CO₂. Nach Anwachsen der Zellen für 24 Stunden erfolgte die Inkubation mit den zu testenden Substanzen für 48 Stunden. Als Kontrolle dienten Ansätze ohne Wirkstoff, der Nullwert wurde vor Zugabe der Wirkstoffe bestimmt.

Die für die Versuche eingesetzten Antineoplastika wurden von Sigma in Zellkultur-Qualität bezogen.

Als Glutaminase wurde eine mit Polyethylenglykol modifizierte Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase (DE 41 40 003 A1, WO 94/13817 A1 und WO 02/31498 A2) verwendet.

Beispiel 2

Bestimmung von synergistischen Effekten

10

Nach der 48-stündigen Inkubationszeit wurden das Zellwachstum mittels Absorption des gebundenen Sulforhodamin-Farbstoffes bei 575 nm bestimmt. Das prozentuale Wachstum wurde wie folgt berechnet:

15

$$PW = \frac{(T_t - T_0)}{(C - T_0)} \cdot 100$$

wobei

20

PW prozentuales Wachstum bedeutet,
C für die unbehandelten Kontrollzellen steht,
T die Menge der behandelten Zellen bedeutet

und die Indices

25

0 und t für die Menge der Zellen zum Zeitpunkt 0 und nach 48 Stunden steht.

Beispiel 2a

30

Kombination aus Mitomycin und Glutaminase

In Abbildung 1 ist die anti-tumorale Wirkung von 0,026 µg/mL Mitomycin auf Zellen eines CNS Tumors (SF-539) und Brust (MCF7) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Mitomycin alleine zeigt

keine Wirkung auf CNS-Zellen, in Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum im Vergleich zur Kontrolle auf 7 % reduziert. Mitomycin reduziert das Wachstum von Zellen des Brusttumors MCF7 auf 66 % im Vergleich zur Kontrolle. Durch Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase wird das Wachstum auf 40 % reduziert.

Beispiel 2b

Kombination aus Mitoxantron und Glutaminase

In Abbildung 2 ist die anti-tumorale Wirkung von 0,3 µg/mL Mitoxantron auf Zellen eines Brust (MCF7), Lungen (NCI-H460) und Colon (SW-60) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Glutaminase allein zeigt nur geringe Wirkung auf die drei Tumoren. Mitoxantron reduziert das Tumorzell-Wachstum alleine auf 23 % bis 47 %. In Kombination wird das Wachstum von Zellen des Brust-, Lungen- und Colon-Tumors auf 1 %, 9 % bzw. 25 % reduziert.

Beispiel 2c

Kombination aus cis-Platin und Glutaminase

In Abbildung 3 ist die anti-tumorale Wirkung von 2 µg/mL cis-Platin auf Zellen eines Lungen (A549), Brust (MCF7) und Colon (HAT29) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. cis-Platin allein bewirkt eine Reduktion des Wachstums auf 41 %, 86 % bzw. 65 %. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum der Tumorzellen auf 15 %, 18 % bzw. 2 % reduziert.

Beispiel 2d

Kombination aus Etoposid und Glutaminase

In Abbildung 4 ist die anti-tumorale Wirkung von 2,3 µg/mL Etoposid auf Zellen von Lungen (A549 und NCI-1-123) und Brust (MCF7) Tumoren alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt.

Etoposid allein reduziert das Wachstum dieser Zellen alleine auf ca. 40 % im Vergleich zur Kontrolle. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum der Tumorzellen auf 18 % und 6 % bzw. 26 % reduziert.

5 **Beispiel 2e**

Kombination aus Melphalan und Glutaminase

In Abbildung 5 ist die anti-tumorale Wirkung von 68 µg/mL Melphalan auf Zellen eines Lungen (NCI-H23) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Melphalan reduziert das Tumorwachstum auf
10 34 %. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum auf 10 % reduziert.

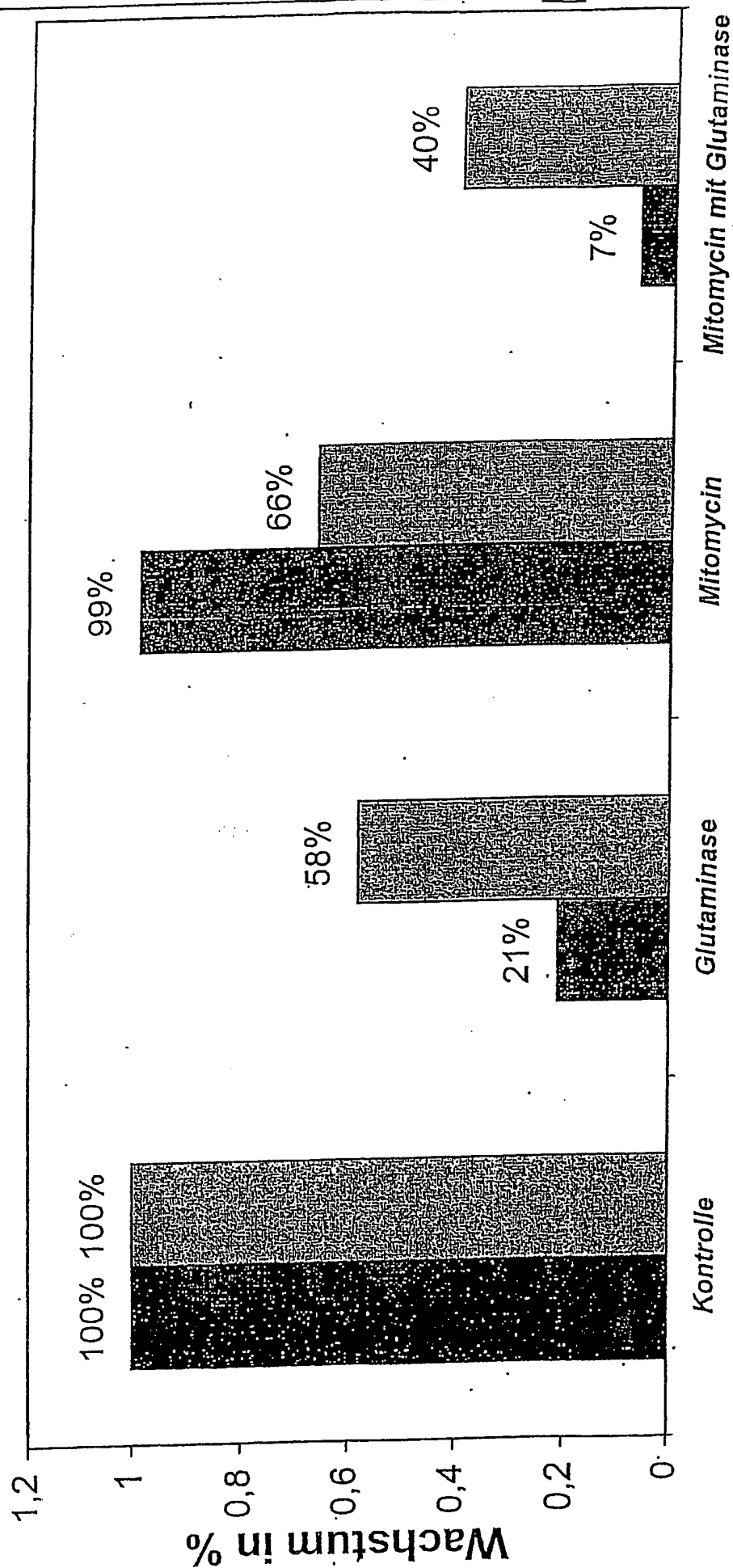
Ansprüche

1. Pharmazeutisches Kombinationspräparat zur Krebstherapie umfassend
5 als Wirkstoffe
a) mindestens eine Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und
b) mindestens ein Antineoplastikum, ausgewählt aus Platin-Komplexen und Anthracyclinen.
- 10 2. Präparat nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität eine Glutaminase,
GlutaminaseAsparaginase, Glutaminase-Analoga, Derivate oder
Modifizierungen dieser sind und entweder natürlichen Ursprungs sind
15 oder synthetisch hergestellt wurden.
3. Präparat nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität aus Pseudomonas ist,
20 vorzugsweise Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase.
4. Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität modifiziert ist,
25 vorzugsweise mit Polyethylenglykol.
5. Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass es Doxorubicin, Daunomycin, Actinomycin D oder/und Mitoxantron
30 umfasst.
6. Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,

dass es cis-Platin, Oxaliplatin oder/und Carboplatin umfasst.

7. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6,
5 dadurch gekennzeichnet,
dass man die Wirkstoffe gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger- oder Hilfsstoffen vermischt und zu oralen oder parenteralen Applikationsformen verarbeitet.
- 10 8. Verwendung von insbesondere einer Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und mindestens einem Antineoplastikum ausgewählt aus Platin-Komplexen und Anthracyclinen zur Herstellung eines Mittels für eine antineoplastische Therapie.
- 15 9. Verfahren zur Behandlung von Krebs und anderen Krankheiten, die im Zusammenhang mit abnormaler Zellproliferation stehen,
dadurch gekennzeichnet,
dass man mindestens eine Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und
mindestens ein Antineoplastikum ausgewählt aus Platin-Komplexen
20 oder Anthracyclinen in einem molaren Verhältnis zwischen 1 : 10 bis 1 : 1000 und 10 : 1 bis 1000 : 1 appliziert, wobei die täglich zu verabreichenden Dosen bei 0,005 - 100 mg/kg Körpergewicht pro Einzelkomponente liegen.

In-vitro anti-tumorale Wirkung von 0,026 µg/ml Mitomycin und 0,001U/mL Glutaminase

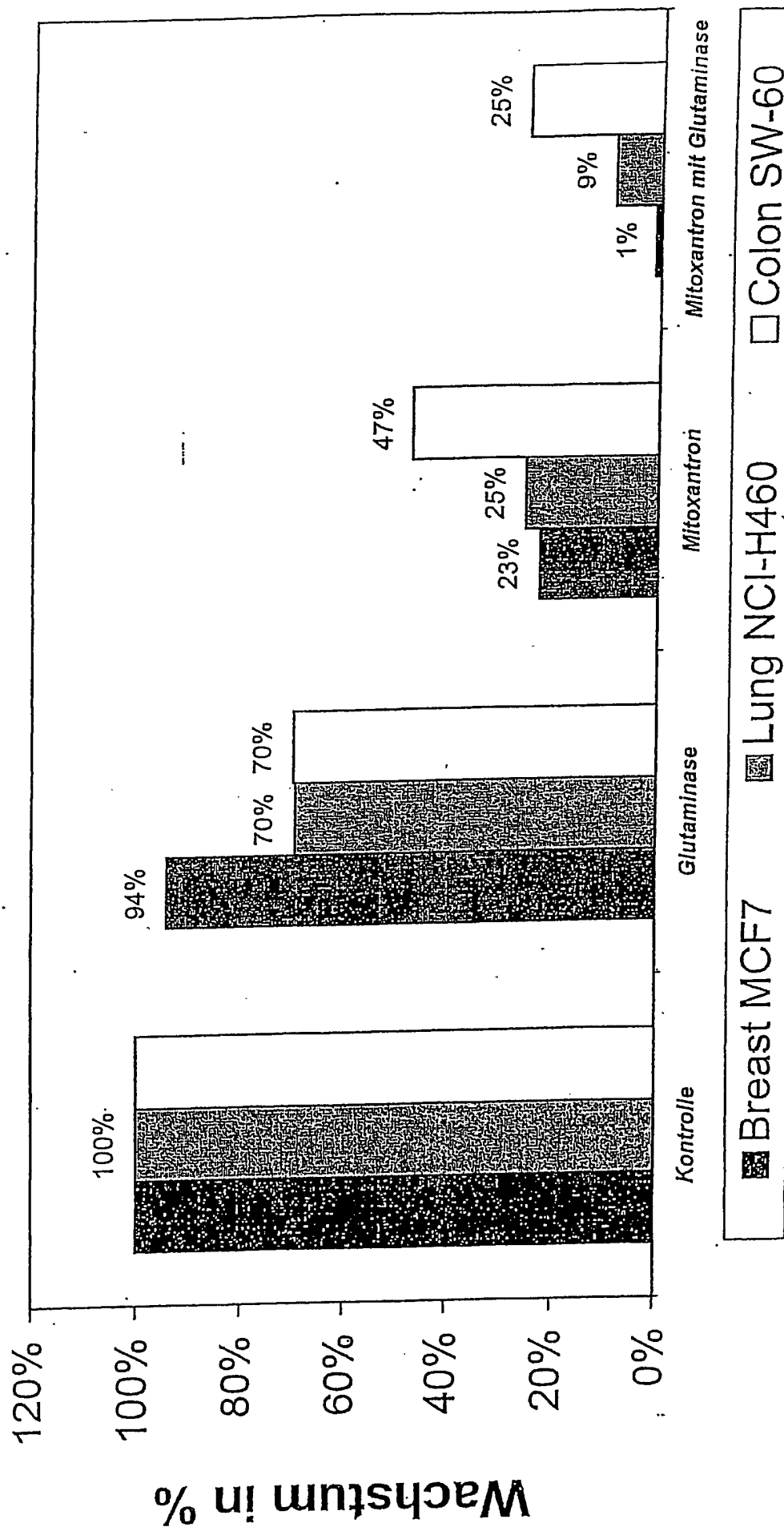


■ CNS SF-539

▨ Breast MCF7

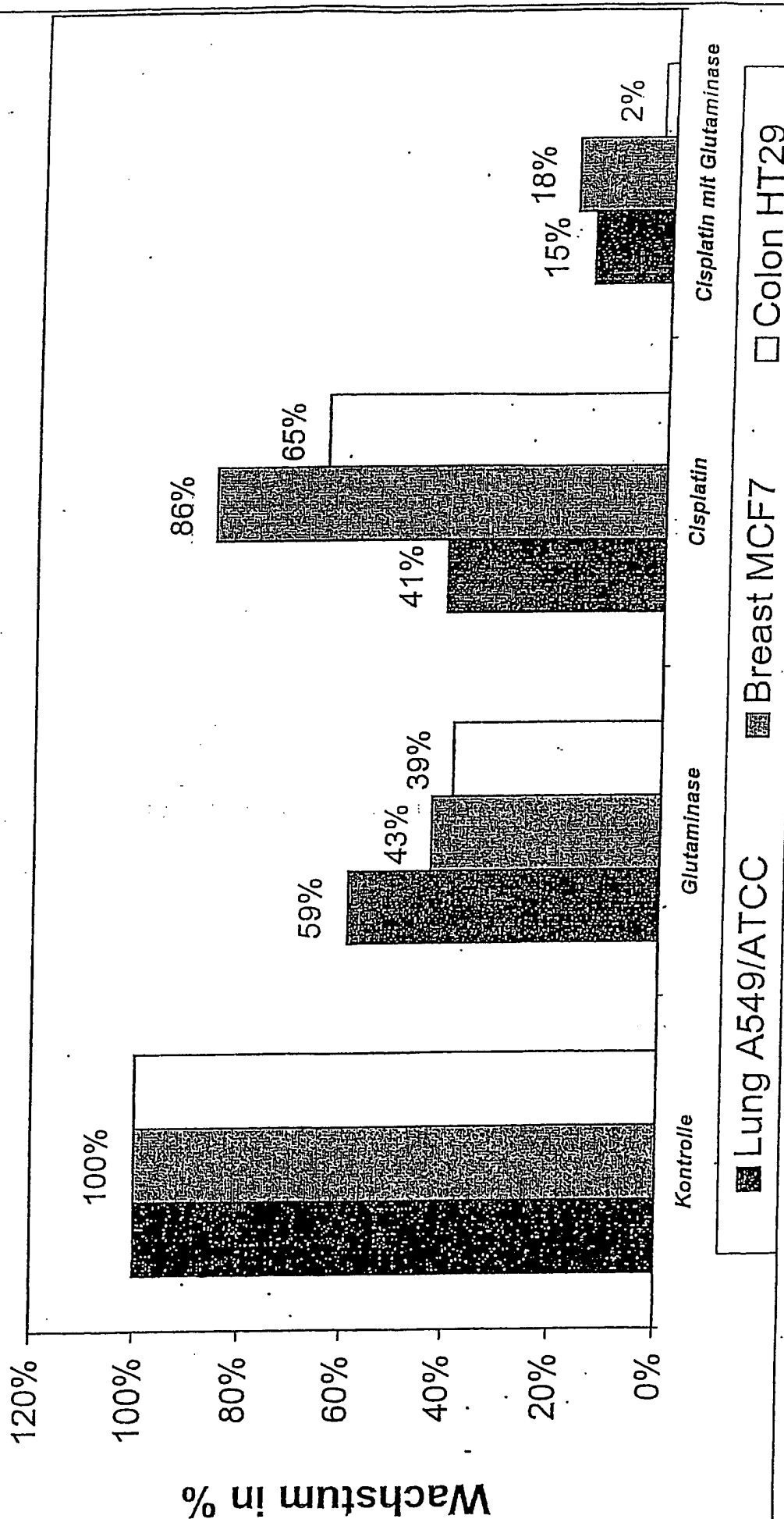
BEST AVAILABLE COPY

In-vitro anti-tumorale Wirkung von 0,3µg/mL Mitoxantron und 0,001 U/mL Glutaminase



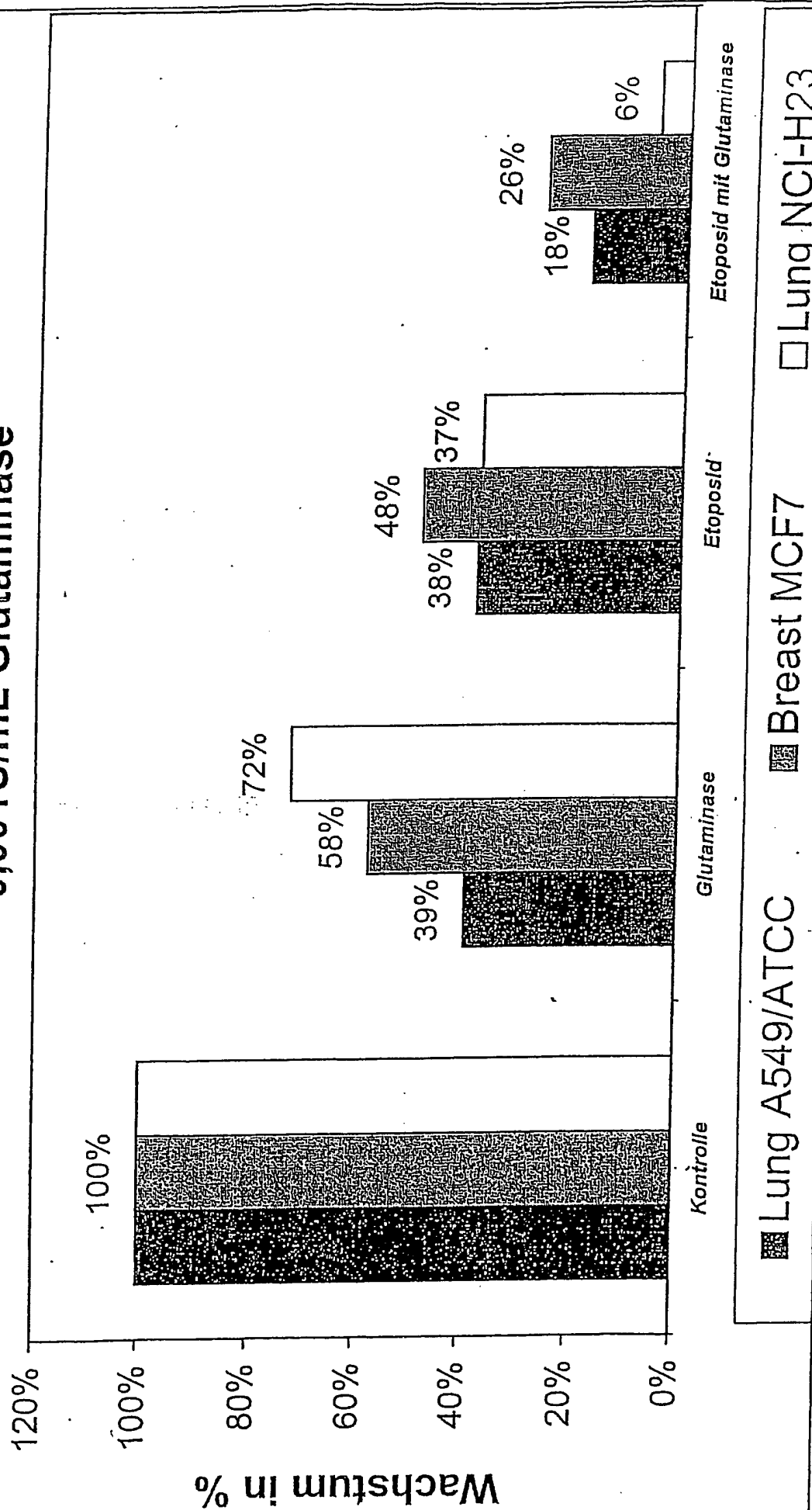
BEST AVAILABLE COPY

In-vitro anti-tumorale Wirkung von 2µg/mL Cisplatin und 0,001U/mL Glutaminase

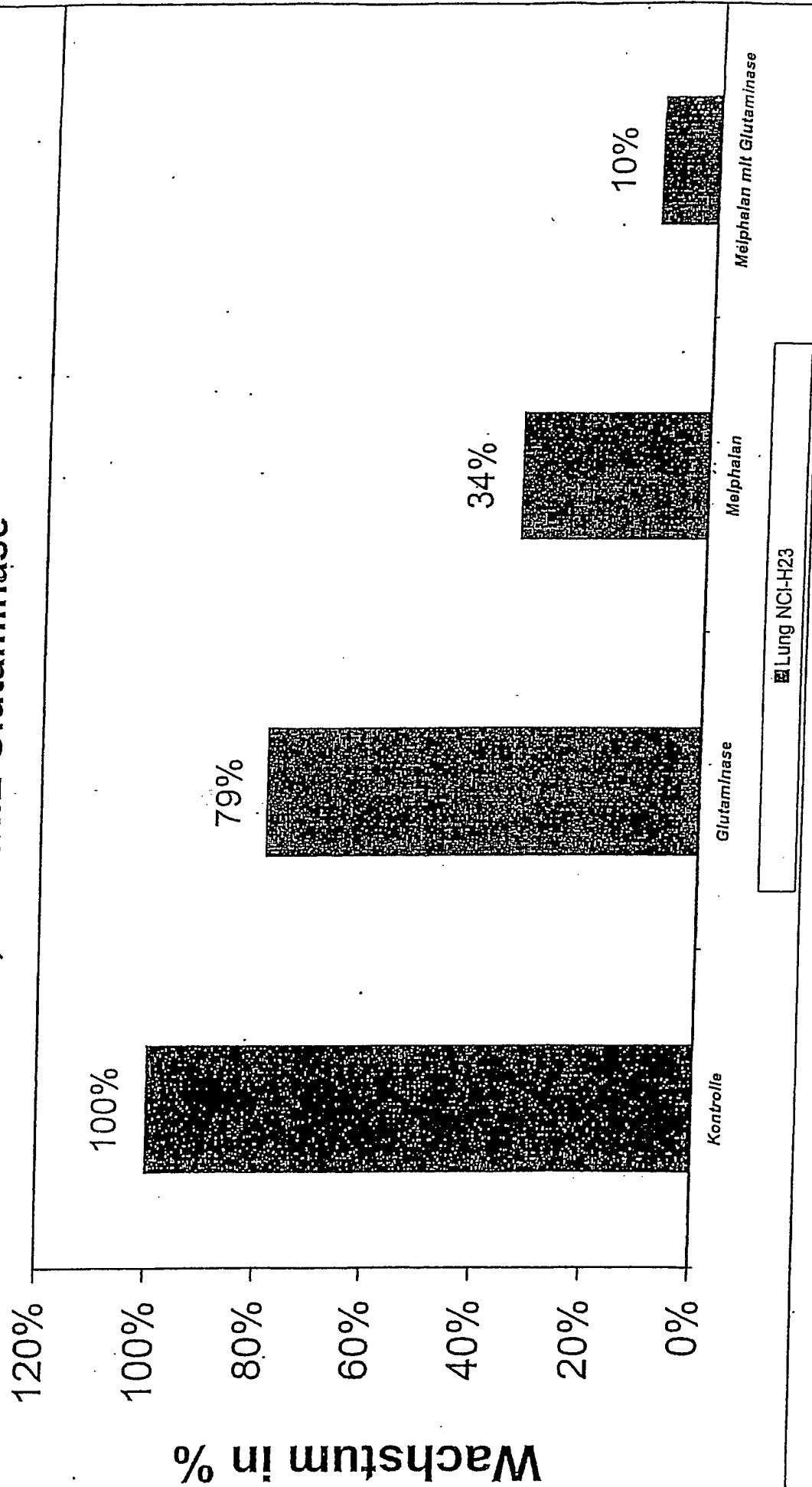


BEST AVAILABLE COPY

In-vitro anti-tumorale Wirkung von 2,3µg/mL Etoposid und 0,001U/mL Glutaminase



In-vitro anti-tumorale Wirkung von 68 µg/ml Melphalan und
0,001U/mL Glutaminase



BEST AVAILABLE COPY

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/50 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 41 40 003 A (-) 9 June 1993 (1993-06-09) cited in the application pages 1-2	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 October 2004

Date of mailing of the international search report

10/11/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ludwig, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/006320

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4140003	A	09-06-1993	DE 4140003 A1	09-06-1993
			US 2002064862 A1	30-05-2002

BEST AVAILABLE COPY

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

PCT/EP 2004 / 006320
Internationales Aktenzeichen

Intern. (11.05.2004) Datum 11 JUN 2004

EUROPEAN PATENT OFFICE
PCT INTERNATIONAL APPLICATION
Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 33132P WO

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Pharmazeutische Kombinationspräparate zur Krebstherapie

Feld Nr. II ANMELDER

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Medical Enzymes AG
Teltowkanalstr.2
12247 Berlin
DE

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

LEENDERS, Frank
Meyerheimstraße 7
10439 Berlin
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Weickmann & Weickmann
Postfach 860 820
81635 München
DE

Telefonnr.:

089/455 63-0

Telefaxnr.:

089/455 63-999

Fernschreibnr.:

Registrierungsnr. des Anwalts beim Amt:

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

BEST AVAILABLE COPY

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

SEIFERT, Wenke
Badstraße 49
09244 Lichtenau
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☐ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☐ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☐ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

"WEITERE VERTRETER"

Namen

Dipl.-Ing.	Franz Albert Weickmann
Dipl.-Chem.	Bernhard Huber
Dr.-Ing.	Horst Liska
Dipl.-Phys. Dr.	Jörg Prectel
Dipl.-Chem. Dr.	Brigitte Böhm
Dipl.-Chem. Dr.	Wolfgang Weiß
Dipl.-Phys. Dr.	Johannes Tiesmeyer
Dipl.-Phys. Dr.	Markus Herzog
Dipl.-Phys.	Bernhard Ruttensperger
Dipl.-Phys. Dr.-Ing.	Volker Jordan
Dipl.-Chem. Dr.	Michael Dey

BEST AVAILABLE COPY

Feld Nr. V BESTIMMUNGEN

Die Einreichung dieses Antrags umfaßt gemäß Regel 4.9 Absatz a die Bestimmung aller Vertragsstaaten, für die der PCT am internationalen Anmeldedatum verbindlich ist, und insoweit verfügbar, für jede Art von Schutzrecht und sowohl für ein regionales als auch für ein nationales Patent.

Dennoch wird

- ☐ DE Deutschland **nicht** für ein nationales Schutzrecht bestimmt
- ☐ KR Republik Korea **nicht** für ein nationales Schutzrecht bestimmt
- ☐ RU Russische Föderation **nicht** für ein nationales Schutzrecht bestimmt

(Obenstehende Kästchen können angekreuzt werden, um die betreffenden Bestimmungen (unwiderruflich) auszuschließen, um zu vermeiden daß eine frühere nationale Anmeldung, deren Priorität beansprucht wird, nach nationalem Recht ihre Wirkung verliert. Siehe die Anmerkungen zu Feld Nr. V für die Folgen solcher nationalen Rechtsvorschriften in diesen und bestimmten anderen Staaten).

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH

Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit in Anspruch genommen:

Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat oder Mitglied der WTO	regionale Anmeldung: * regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) (11.06.2003) 11. Juni 2003	103 26 821.9	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

- ☐ Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.

Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist (sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist):

- ☐ sämtliche Zeilen ☐ Zeile (1) ☐ Zeile (2) ☐ Zeile (3) ☐ weitere, siehe Zusatzfeld

* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, geben Sie mindestens einen Staat an, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums oder Mitglied der Welthandelsorganisation ist und für den oder das die frühere Anmeldung eingereicht wurde:

Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):

ISA /

Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):

Datum (Tag/Monat/Jahr) Aktenzeichen Staat (oder regionales Amt)

Feld Nr. VIII ERKLÄRUNGEN

Die Felder Nr. VIII (i) bis (v) enthalten die folgenden Erklärungen (Kreuzen Sie unten die entsprechenden Kästchen an und geben Sie in der rechten Spalte für jede Erklärung deren Anzahl an):

		Anzahl der Erklärungen
<input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII (i)	Erklärung hinsichtlich der Identität des Erfinders	:
<input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII (ii)	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, ein Patent zu beantragen und zu erhalten	:
<input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII (iii)	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen	:
<input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII (iv)	Erfindererklärung (nur im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika)	:
<input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII (v)	Erklärung hinsichtlich unschädlicher Offenbarungen oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit	:

Feld Nr. IX KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält:	Dieser internationalen Anmeldung liegen die folgenden Unterlagen bei (kreuzen Sie die entsprechenden Kästchen an und geben Sie in der rechten Spalte jeweils die Anzahl der beiliegenden Exemplare an)	Anzahl
(a) auf Papier, die folgende Anzahl Blätter:		
Antrag (inklusive Erklärungsblätter) :	5	1
Beschreibung (ohne Sequenzprotokoll und/oder diesbezügliche Tabellen) :	13	
Ansprüche :	2	
Zusammenfassung :	1	
Zeichnungen :	5	
Teilanzahl :	26	
Sequenzprotokoll :		
diesbezügliche Tabellen :		
(für beide, Anzahl der Blätter, soweit auf Papier eingereicht wird, unabhängig davon, ob zusätzlich auch in computerlesbarer Form eingereicht wird; siehe unter (c))		
Gesamtanzahl :	26	
(b) <input type="checkbox"/> ausschließlich in computerlesbarer Form (Abschnitt 801(a)(i))		
(i) <input type="checkbox"/> Sequenzprotokoll		
(ii) <input type="checkbox"/> diesbezügliche Tabellen		
(c) <input type="checkbox"/> auch in computerlesbarer Form (Abschnitt 801(a)(ii))		
(i) <input type="checkbox"/> Sequenzprotokoll		
(ii) <input type="checkbox"/> diesbezügliche Tabellen		
Art und Anzahl der Datenträger (Diskette, CD-ROM, CD-R oder sonstige) auf denen sich befinden		
(i) <input type="checkbox"/> Sequenzprotokoll:		
(ii) <input type="checkbox"/> diesbezügliche Tabellen:		
(zusätzliche eingereichte Kopien unter Punkt 9(ii) und/oder 10(ii) in der rechten Spalte angeben)		
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):	Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird:	deutsch

Feld Nr. X UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, DES ANWALTS ODER DES GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

11. Juni 2004

M. G.

Dr. Michael Dey

BEST AVAILABLE COPY

Vom Anmeldeamt auszufüllen		2. Zeichnungen: <input checked="" type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	11 JUN 2004 (11.06.04)	
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:		
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:		
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben	

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro: